VERGLEICHENDE BIOCHEMISCHE UND IMMUNOLOGISCHE STUDIEN AN PROTEIN-EXTRAKTEN NORMALER UND MALIGNE ENTARTETER GEWEBE

Untersuchungen der Extrakte normalen Leberparenchyms
und eines primär in der Leber entstandenen Tumors

---

von

Hermann Munsel

aus Finschhafen/Neu Guinea

1966

1967 № 217

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535725_0061

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen-Nürnberg
(Direktor: Prof. Dr. N. Henning)

VERGLEICHENDE BIOCHEMISCHE UND IMMUNOLOGISCHE STUDIEN AN PROTEIN-EXTRAKTEN NORMALER UND MALIGNE ENTARTETER GEWEBE

Untersuchungen der Extrakte normalen Leberparenchyms
und eines primär in der Leber entstandenen Tumors

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
zu Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Hermann Munsel
aus Finschhafen/Neu Guinea

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen
Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg

Dekan: Professor Dr. K.G. Ober

Referent: Professor Dr. F. Scheiffarth

Tag der mündlichen Prüfung: 17. September 1966

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Untersuchungsgut	2
Versuchsanordnung	2
Methodik	4
Ergebnisse	9
Diskussion	21
Zusammenfassung	30
Literatur	31

Frühere eigene Untersuchungen an Organextrakten (11,12,13,14, 31,32,34,35,37) sollten der Aufklärung von Protein- und Enzym-mustern histologisch unveränderter menschlicher Organe dienen und damit Grundlage für die biochemische und immunologische Analyse pathologischer Gewebe bilden. Diese Analysen sind, wie wir heute wissen, nicht nur für die theoretische Protein- und Gewebe-Forschung von Interesse sondern insbesondere auch für klinische Fragestellungen, wobei der Nachweis organspezifischer Eiweißfaktoren im Patientenblut --man denke etwa an enzymatische Faktoren oder an Dysproteinämietypen -- darauf hinweisen, daß zwischen dem Auftreten solcher Indikatoren und der Schädigung eines bestimmten Organes Korrelationen bestehen. (2,50)

Zur Frage dessen, ob die unter pathologischen Bedingungen einsetzende Anreicherung bestimmter Proteine oder spezifischer Fermente verläßliche Rückschlüsse auf eine definierte Provenienz bzw. auf ein lädiertes Organ zuläßt, sollen in einer nun folgenden Analysenreihe verschiedene maligne entartete Gewebe mit den als histologisch unverändert befundenen Organen hinsichtlich ihrer Protein- und Ferment-Muster sowie hinsichtlich ihrer Antigenität verglichen werden.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit Studien an den Extrakten normalen Lebergewebes und eines in der Leber primär entstandenen Tumors. Dabei wurden insbesondere die Probleme der Organ- bzw. Tumor-Spezifität durch die Wahl der Versuchsanordnung mit berücksichtigt.

I. UNTERSUCHUNGSGUT, VERSUCHSANORDNUNG UND METHODIK

1. UNTERSUCHUNGSGUT

In den vorliegenden Studien wurden die Extrakte von histologisch unverändertem Lebergewebe sowie eines histologisch gesicherten Haemangioendothelioms der Leber (+) agarelektrophoretisch, mit zusätzlichen Farb- und Fermentreaktionen, sowie immunologisch analysiert. Mit jedem Analysensatz wurde jeweils das Serum eines Gesunden vergleichsweise mitaufgetragen.

2. VERSUCHSANORDNUNG

Zur Aufklärung der hier verwendeten antigenen Proteinlösungen wurde zuerst die einfache Elektrophorese im Agargel vorgenommen. Anschließend wurden zur Charakterisierung der Fraktionen die einzelnen unten aufgeführten

---

(+) Die Organpräparate und die histologischen Befunde verdanken wir dem Patholog. Institut der Univ. Erlangen (Direktor: Prof. Dr. med. E. Müller)

Färbe- und Fermentnachweisreaktionen angewandt. Darüber hinaus wurde jedes Substrat immunologisch analysiert. Dabei wurde jeder Extrakt sowohl im Rahmen der zweidimensionalen Immunodiffusion als auch mit der Immunoelektrophorese je gegen sein spezifisches, im Tierversuch gewonnenes Antiserum (siehe unten), gegen das konräre Antiserum (Normalextrakt gegen Tumor-Antiserum und umgekehrt), sowie schließlich gegen ein Anti-Human-Serum (+) immunologisch geprüft.

In einer besonderen Versuchsanordnung wurde dann noch jedes zum Zweck der Absorption mit dem konträren Antigen versetzte Immunserum für die Immunoelektrophorese der verschiedenen Organextrakte zur Testung verwendet.
Im einzelnen wurden folgende Absorptionen vorgenommen:

1. Anti-(normal)-Leber-Serum + Humanserum
2. Anti- Tumor- Serum + Leber-(normal)-Extrakt
3. Anti-Tumor-Serum + Humanserum
4. Anti-(normal)-Leber-Serum + Tumorextrakt

Das Antiserum wurde jeweils mit dem konträren Antigen im Verhältnis 10:1 versetzt, 1 Stunde bei 37°C im Brutschrank belassen, anschließend 2 Stunden lang bei +4°C gekühlt, wobei sich in der Regel ein deutliches Präzipitat absetzte. Das Überstehende Serum wurde abpipettiert und nach abgeschlossener Agarelektrophorese der Antigene als Immunserum verwendet.

(+) Antihumanserum von der Ziege, Travenol-International München

3. METHODIK

A) Aufbereitung der Organe (9)

Zunächst wurde das frische, von Bindegewebe befreite Sektionspräparat etwa 4 - 6 Stunden lang gewässert, in kleine Stücke geschnitten, nochmals kurz gewässert und im Multimix mit der 5 fachen Menge Aqua dest. zerkleinert und danach 10 Minuten lang bei 2500 U / min 30 Min. lang zentrifugiert. Die oberflächliche Fettschicht wurde abgehoben, die Zwischenschicht zurückgestellt und im Kühlschrank bei + 4°C aufbewahrt, das Sediment 1:1 mit physiologischer Kochsalzlösung versetzt und mit dem Ultra-Turrax (°) homogenisiert. Der so gewonnene Extrakt wurde wiederum zentrifugiert, das Sediment dann verworfen, die beiden Überstände zusammengegossen und zum letzten Mal bei 7000 U/min 30 Min. lang zentrifugiert. Dieser Überstand wurde durch Dialyse (Ø) gegen 20 %iges Kollidon im Kühlschrank bei +4°C auf eine mindestens 4-5% ige Eiweißlösung eingeengt.

B) Kombinierte agarelektrophoretische und biochemische Methoden

a) Einfache Elektrophorese im Agargel nach den Angaben von GRABAR und WILLIAMS (10,15a-c,16a-b,17a-b,48), wobei geringfügige Abänderungen in den Maßen und Mengen der Platten und der Auftragemengen vorgenommen wurden.

(°): Ultra-Turrax der Fa. Janke + Kunkel KG. Staufen i. Br.

(Ø): Dialysiermembranschläuche der Fa. Membranfilter-Gesellschaft Göttingen

b) Färbungen und Fermentnachweisreaktionen:

Proteinfärbung mit Amidoschwarz 10 B	(16,44)
Kohlenhydratfärbung	(16,33,44,45)
Lipoproteidfärbung mit Sudanschwarz B	(16,44)
Coeruloplasmindarstellung	(30,33,43)
Haptoglobindarstellung mit Benzidin	(16)
Amylasenachweis	(12, 28b)
Charakterisierung der Carbonsäureesterasen	
mit ß-Naphthylacetat	(16, 31)
mit Indoxylacetat	
Nachweis der Lactatdehydrogenase	(46)
Nachweis der alkalischen Phosphatase	(36)

C) Immunologische Methoden

α) Passive Hämagglutinationsreaktion nach BOYDEN (3)

(Als Modifikation der Methode wurden menschliche Erythrozyten der Blutgruppe rh 0 verwendet und Agglutinationsschalen statt Röhrchen)

Vorgang:

1. Erythrozyten wurden mehrmals mit physiol. NaCl-Lösung gewaschen
2. Tanninlösung wurde angesetzt:
   (1: 40 000 = 0,01 g ad 400 ml physiol. NaCl)
3. 2,5 %ige Erythrozytensuspension wurde hergestellt

4. 2,5 %ige Ery-suspension und Tanninlösung wurden im Verhältnis 1:1 gemischt und 20 min ins Wasserbad bei 37°C gestellt
5. Die Erythrozyten-Tanninlösung wurde aus dem Wasserbad genommen und abzentrifugiert (15 min bei 1000 U/min), der Überstand verworfen, das Sediment gewaschen und anschließend wieder auf 2,5 % eingestellt
6. Die Erythrozyten-Tanninlösung wurde mit Antigen gemischt (10 ml 2,5 %ige Erys + 0,2 ml Antigen) und erneut ins Wasserbad gestellt
   (Da das Leberhomogenat oft eine Hämolyse verursachte, wurde die Antigenkonzentration auf die Hälfte herabgesetzt)
7. Die Mischung wurde dann zentrifugiert und 2 mal mit physiologischer NaCl-Lösung gewaschen
8. Das Sediment wurde auf die vorgelegte Menge aufgefüllt
9. und die Agglutinationsreihen angesetzt folgendermaßen:

   0,25 ml NaCl in jede Vertiefung (Röhrchen)
   0,25 ml inaktiviertes Serum in die erste Vertiefung und dann fortlaufende Verdünnung wie üblich
   0,25 ml Erys konstant in alle Vertiefungen

Leerkontrollen wurden mitgeführt und die Verdünnungen bis auf das 20 fache (= 1: 2^{20}) gesteigert beim Ansteigen des Antikörpertiters im untersuchten Serum. Die Auswertung erfolgte nach etwa 2 bis 3 Stunden.

ß) Zweidimensionale Immunodiffusion nach OUCHTERLONY (25, 39)

Diese Technik wurde angewandt zum Nachweis Praezipitierender Antikörper während der Sensibilisierung und außerdem für den Nachweis von Identitäts- und Kreuzreaktionen. Für die Anordnung siehe Schema auf Seite .

γ) Immunoelektrophorese nach GRABAR und WILLIAMS (s.S 4)

Diese Methode wurde zur Aufklärung und Charakterisierung praezipitierender Antikörper in den verschiedenen Organextrakten angewandt. Bei bestimmter Versuchsanordnung sollte gleichzeitig die Frage nach einer Organ- bzw. Tumor-spezifität berücksichtigt werden.

D) Herstellung der Organ-Antiseren

Es wurden jeweils 2 Kaninchen mit Normalextrakt sowie mit Tumorextrakt sensibilisiert.
In einer ersten Sensibilisierungsphase wurden alle Tiere in gleicher Weise behandelt: sie erhielten eine erste, 10 Tage darauf eine zweite und nochmals 10 Tage später eine dritte intramuskuläre Injektion mit einer Mischung von 3 Teilen Homogenat zu 1 Teil Freund'schem

Adjuvans (im Ganzen 3 cc pro Tier). 3 Wochen nach letzter intramuskulärer Extraktapplikation folgte eine zweite Sensibilisierungsserie, wobei jedem Tier 2 cc Homogenat ohne Adjuvans 2 mal im 5-tägigen Abstand subcutan injiziert wurde. Blutabnahmen erfolgten vor Beginn der Sensibilisierung der Kaninchen und jeweils in 10-tägigen Abständen über die gesamte Injektionsbehandlung hinweg. Die Antiseren wurden sowohl mit Präzipitationstechniken als auch mit der passiven Haemagglutinationsreaktion geprüft. (siehe auch Schema auf Seite 13b)

II. ERGEBNISSE

1. ELEKTROPHORETISCHE ERGEBNISSE UND FERMENTREAKTIONEN

Die Färbung mit Amidoschwarz 10 B ergab für das normale Lebergewebe ein Proteinmuster, wie es von früheren Analysen her bekannt ist (13,23,34). Es zeigten sich insgesamt bis zu 14 Fraktionen, unter welchen vor allem die anodisch gewanderten den Fraktionen des ß- und γ-Bereiches an Intensität überlegen waren. Besonders in Erscheinung traten eine dem Serum Albumin vergleichbare Komponente, zwei Fraktionen im α-Bereich, sowie ein Komplex an der Stelle der $ß_1$-Globuline. Die Proteine des ß-γ-Bereiches waren trotz ihrer wesentlich schwächeren Anfärbbarkeit in 6 Fraktionen differenzierbar, wobei hier die am weitesten kathodisch gewanderte Komponente durch ihre Schärfe und relativ starke Intensität auffiel. Vor der Albuminfraktion zeigten sich zumeist bis zu zwei schwach anfärbbare Proteine.

Der vergleichsweise mitangesetzte Tumorextrakt war insgesamt weniger stark konzentriert; an ihm konnten lediglich anodisch gewanderte Proteinkomplexe und eine schwach anfärbbare Fraktion im $ß_1$-Bereich zur Darstellung gebracht werden. In der Zone der $ß_2$- und γ-Globuline fand

sich lediglich eine Proteinschliere, die nur bei einer Analyse andeutungsweise in 4 Fraktionen differenzierbar war. Die Diskrepanz zwischen der Anreicherung der anodisch gewanderten Fraktionen und den quantitativ verminderten Proteinen jenseits (kathodenwärts) des Auftragestriches war bei dem hier untersuchten Tumorgewebe wesentlich auffälliger als bei dem normalen Lebergewebe. Schließlich fiel auf, daß in allen Ansätzen die als Albumin definierte Fraktion im Tumorextrakt weiter anodisch reichte als die des Leberhomogenates.

Mit SCHIFF schem Reagens ließen sich im normalen Leberextrakt sämtliche Proteine des anodischen Bereiches anfärben, wobei allerdings die mit dem Albumin vergleichbare Fraktion sowie der α_2-Komplex zentral ausgespart blieben. Am intensivsten anfärbbar war ein Komplex an der Stelle der β_2-Globuline, während die β_1-Fraktion von der Färbung praktisch nicht erfaßt wurde. Schließlich war vor dem Albumin als auch extrem kathodisch je ein Komplex mit der Kohlenhydratfärbung darstellbar. Der Tumorextrakt zeigte lediglich eine Farbzone vom Bereich der anodisch gewanderten Globuline bis hin zu dem Albumin.

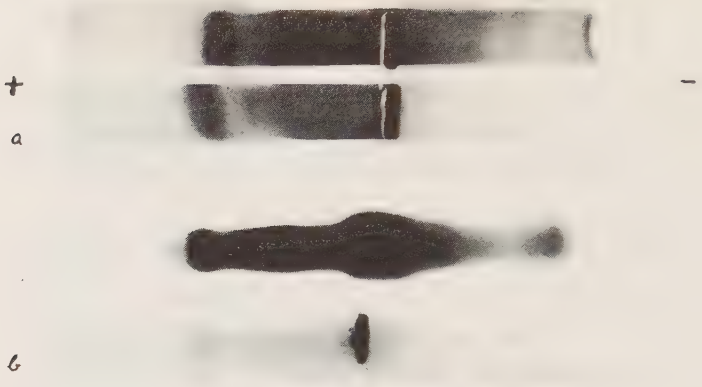


Abb.1: Agarelektrophorese mit Proteinfärbung von Leberextrakt und Lebertumor. Man erkennt deutlich, daß der Tumorextrakt vorwiegend Proteine im anodischen Bereich, d.h. vom Typ der α-Globuline aufweist, während ß-u.γ-Globuline nur spurenhaft vorliegen.
Im vergleichsweise angesetzten verdünnten Leberextrakt (a) erkennt man dagegen über den gesamten Bereich von den Präalbuminen (b) bis weit in die Zone der γ-Globuline eine Vielzahl von Fraktionen.

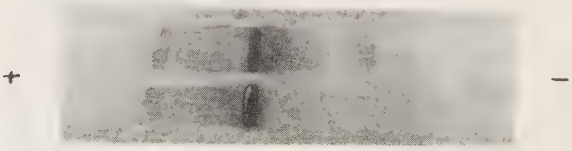


Abb.2: Agarelektrophoretische Trennung der Extrakte normalen Lebergewebes und eines Hämangioendothelioms der Leber; Nachfärbung mit SCHIFFschem Reagens zur Darstellung der Glykoproteide.

Mit Sudanschwarz B ließen sich eine schwach färbbare Fraktion im Bereich der unmittelbar vor dem Albumin gelegenen Komponente, eine weitere im Bezirk der α_1-Globuline, ein etwas deutlicherer Komplex an der Stelle der α_2-Globuline und eine intensiv anfärbbare Fraktion im Bereich der Auftragestelle nachweisen.
Im Tumorextrakt konnte praktisch nur im Bereich des Auftragestriches und schlierenhaft von dort bis in die Gruppe der α_2-Globuline eine Farbtönung wahrgenommen werden.

Bei Färbung mit Alizarin-S-Blau konnte im Leberextrakt im Bereich der Albumine sowie innerhalb des α-Komplexes eine Farbtönung nachgewiesen werden. Im Tumorextrakt war allenfalls die Albuminfraktion schwach getönt. Die Auftragestelle war in beiden Fällen mitgefärbt.

Fermentnachweismethoden

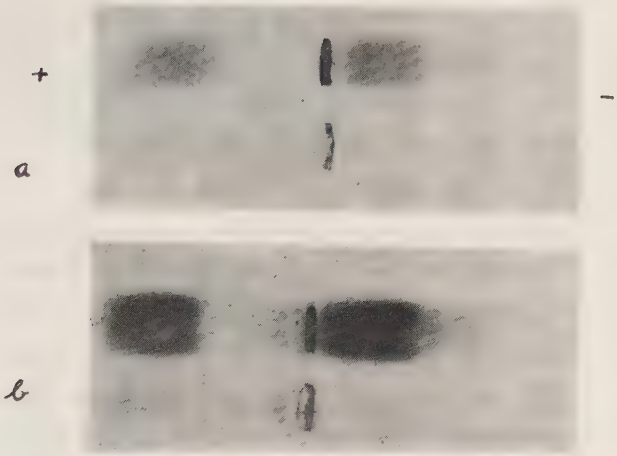
Esteraseaktive Fraktionen:
Mit Indoxylacetat ließ sich im normalen Leberextrakt mit Regelmäßigkeit ein weit anodisch gewanderter Komplex mit zwei differenzierbaren, aber ineinander übergehenden Komponenten sowie ein ebensolcher Komplex mit zwei Unterfraktionen im β_1-β_2-Bereich, und schließlich eine Frak-

tion an der Stelle der γ_1-Globuline, die ihrerseits ebenfalls bei verschiedenen Analysen eine Unterteilung erkennen ließen, abgrenzen.
Im Tumorextrakt war allein im Bereich der Auftragestelle eine Ablagerung von Indigofarbstoff zu erkennen.

Mit ß-Naphthylacetat konnten im normalen Extrakt die oben beschriebenen Komplexe wesentlich intensiver nachgewiesen werden, wobei insbesondere die Gruppen der anodisch gewanderten esteraseaktiven Komponenten relativ stärker in Erscheinung traten.
Im Tumorgewebe waren diesmal ebenfalls Farbreaktionen nachweisbar, die weitaus schwächer ausfielen und nur annähernd dem Muster des normalen Lebergewebes entsprachen.

Mit Tetrazolium-Blau ließen sich im normalen Extrakt 5 deutlich gefärbte Fraktionen differenzieren, von welchen die anodisch gewanderten vielfach wesentlich schwächer angefärbt waren als die im $ß_2$- und γ-Globulinbereich faßbaren.
Im Tumorextrakt färbten sich ebenfalls 5 Fraktionen an, die jedoch wesentlich schwächer ausfielen. Unter ihnen imponierte jedoch ein Komplex im $ß_2$-γ-Bereich, der wiederum relativ intensiv ausfiel.

Abb. 3:



Fermentreaktion zur Darstellung esteraseaktiver Komponenten in den agarelektrophoretisch getrennten Extrakten von Lebertumor und normaler Leber.
In 3a Reaktion mit Indoxylacetat (wahrscheinlich spezifische Acetylcholinesterasen); in 3b mit ß-Naphthylacetat (Erfassung auch der Pseudoesterasen) Man erkennt jeweils die weitaus schwächere Reaktion im Tumorextrakt.

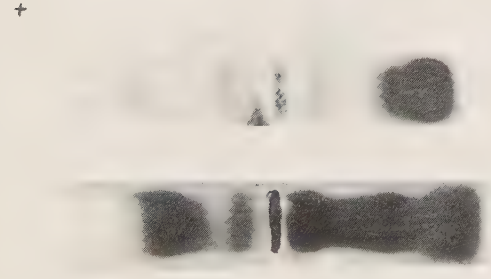


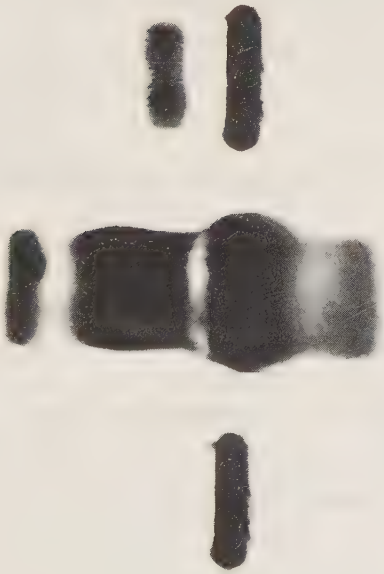
Abb.4:
Darstellung der Lactatdehydrogenase mit Tetrazoliumblau in den agarelektrophoretisch getrennten Seren von Tumorextrakt und unveränderter Leber.

Die Reaktion mit Benzidin ergab im normalen Leberextrakt im wesentlichen 4 Farbkomplexe, von welchen einer weit vor dem Albumin, der zweite im Bereich der Albuminfraktion der dritte an der Stelle der α-Globuline, der vierte im Bereich der β_1- Globuline nachweisbar war. Regelmäßig unterteilt war der Komplex im α-Bereich, in einzelnen Fällen ließ sich aber auch die am weitesten anodisch gewanderte Komponente in 2 Fraktionen unterteilen.
Der Tumorextrakt ließ eine intensive Färbung an der Stelle der Albumine, und einen langgestreckten Komplex im Bereich der α-Globuline sowie auch der Auftragestelle erkennen.

Die Reaktion auf alkalische Phosphatase ergab im Leberextrakt eine intensive Färbung im Bereich des Auftragestriches und in der Zone der α_2-Globuline (scharf abgegrenzt!).
Im Tumorextrakt ließ sich regelmäßig an der Auftragestelle und nur extrem schwach ebenfalls im Bereich der α_2-Globuline eine Farbreaktion nachweisen.

Der Nachweis einer amylaseaktiven Komponente nach Jod-Stärke-Reaktion gelang nur im normalen Leberextrakt und zwar im Bereich der β_2-γ-Globuline, nicht aber im Tumorgewebe. Nach Eintrocknung und Nachfärbung mit

Abb. 5: Darstellung der Peroxydase in den agarelektrophoretisch getrennten Extrakten von Leber und Lebertumor.



a. Leber

b. Proteinnachfärbung von a

c. Lebersarkom

Abb. 6: a+c: Darstellung der alkalischen Phosphatase in den agarelektrophoretisch getrennten Extrakten von Leber und Lebertumor.

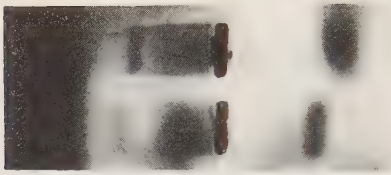


Abb. 7: Amylasenachweis in den agarelektrophoretisch getrennten Extrakten von normaler Leber und eines Hämangioendothelioms der Leber.

Schema I. Immunisierungsschema

Zeichenerklärung:

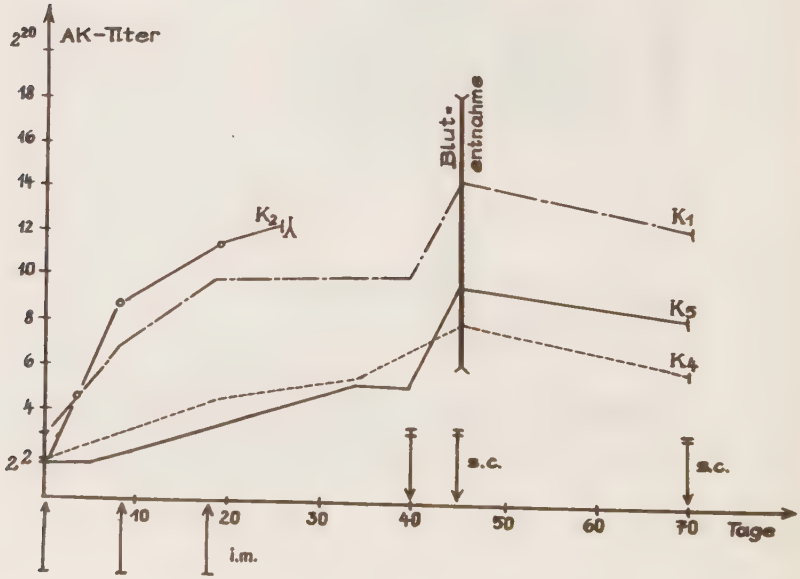
Kaninchen -- immunisiert mit

K_1, K_2 } Sarkom-Leber

K_4, K_5 } Normal-Leber

i.m. = Extrakt i.m. + FREUND sches Adjuvans

s.c. = Extrakt s.c. ohne Adjuvans



Jodlösung fielen im normalen Leberextrakt rotviolette Farbreaktionen im anodischen Bereich und eine intensiv dunkelviolett gefärbte Fraktion weit kathodisch auf. Der Tumorextrakt zeigte eine schwächere rot-violette Färbung der Albumine, der α-Globuline und der Auftragestelle sowie einer Komponente im γ_1-Bereich.

Die Reaktion auf Oxydaseaktivität ergab im normalen wie auch im Tumorextrakt lediglich im Bereich des Auftragestriches sowie unmittelbar davor (d.h. etwa in der Zone der α_2-Globuline) eine schwache Färbung.

2. IMMUNOLOGISCHE ERGEBNISSE

a) Passive Hämagglutinationsreaktion nach BOYDEN

Auf Grund der Hämagglutinationstiter im Verlauf der Sensibilisierungsserien mit Tumor-extrakt und Leberextrakt ist festzustellen, daß die positiven Häm - agglutinationsreaktionen bei den mit Tumor-extrakt behandelten Tieren früher und intensiver auftraten als bei den Kaninchen, die mit Normal-(leber)-extrakt behandelt wurden. Ein Tier aus der Tumorreihe, dessen Serum im übrigen die höchsten Titerstufen erreichte, ging 30 Tage nach Sensibilisierungsbeginn (d.h. nach der dritten i.m. Injektion) zugrunde.

b) Zweidimensionale Immunodiffusion nach OUCHTERLONY

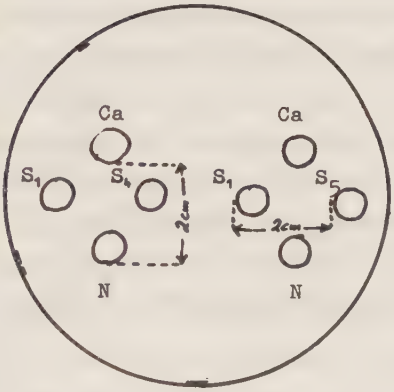
Auf Grund der Präzipitationsreaktionen eines Ansatzes von Tumorextrakt und normalen Homogenat gegen Antitumorserum und Antileberserum ergaben sich folgende Befunde:

Antitumorserum entwickelte sowohl gegen seinen spezifischen Tumorextrakt als auch gegen normales Lebergewebe eine Reihe von Präzipitationslinien, (maximal bis zu 6) wobei die Zahl der Präzipitate gegen den spezifischen Tumorextrakt größer wär (Differenz: 2-3 Fraktionen) als gegen das normale Homogenat. Bei mehrfachen Ansätzen dieser Versuchsanordnung konnten sichere Identitätsreaktionen zwischen diesen Präzipitaten nicht nachgewiesen werden; lediglich in einem Analysensatz ergaben sich Hinweise für die Identitätsreaktion von wenigstens zwei Linien. (Abb. 8)

Antinormalleberserum ergab ebenfalls sowohl gegen sein spezifisches Antigen (NLEx) als auch gegen das Tumorgewebe die Entwicklung mehrerer Präzipitationslinien, hier dergestalt, daß die Zahl der Präzipitate gegen das Leberantigen größer waren als gegen das Tumorgewebe. Maximal waren bis zu 7 Präzipitationssysteme darstellbar. Identitätsreaktionen ergaben sich allenfalls für zwei, sicher aber für eine Fraktion. (Abb. 8)

Immunodiffusion nach OUCHTERLONY

Schema II



Zeichenerklärung:

Ca = Lebertumorextrakt

N = Normal-leberextrakt

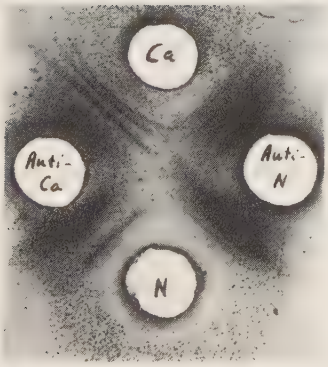
S_1 = Antitumorserum von Kaninchen 1.

S_4 = Antileberserum
S_5 von Kaninchen 4. u. 5.

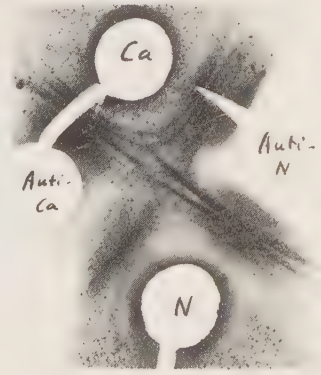
Abb. 8: Versuchsanordnung im OUCHTERLONY-Schalentest: Gegenübergestellt wurden Leberextrakt und dessen spezifisches Antiserum, ferner Tumorhomogenat und ebenfalls sein spezifisches Antiserum.

a u. b: Ergebnisse mit verschiedenen Antiseren, wobei in a ein etwas niedriger Präzipitintiter offensichtlich wird.

a



b



Auffällig war bei dieser Versuchsanordnung, daß(sich) regelmäßig zwischen dem Anti-tumorserum und Tumor sowie Anti-leberserum und Leberextrakt für wenigstens 2 Systeme, in einem Beispiel sogar für 3, eine sichere Identitätsreaktion erkennbar war, daß diese Systeme jedoch von den Präzipitationslinien zwischen Anti-leberserum und Leberextrakt gekreuzt wurden und daß diese Präzipitate im wesentlichen auch nur Kreuzungsphänomene mit den zwischen Anti-tumorserum und Leberextrakt ausgebildeten Präzipitaten zeigten.

c) Immunoelektrophorese nach GRABAR und WILLIAMS

Die immunoelektrophoretischen Studien wurden derart disponiert, daß jeweils der Leber(normal)-extrakt, der Tumorextrakt, sowie das Serum eines Gesunden gegen Anti-leberserum, Anti-tumorserum und Anti-Human-Serum zur Reaktion gelangen konnten. Bei diesen Studien ergaben sich tiefgreifende Unterschiede in der Anordnung und Form der Präzipitationslinien.

Normalleberextrakt zeigte gegen sein spezifisches Antiserum bis zu 14 verschiedene Präzipitationssysteme. Unter ihnen imponierte eine weit anodisch auspräzipitierte Fraktion mit Antigenüberschußphänomen, eine weitgespannte ebenfalls breit auspräzipitierte Linie, die sich

aus dem anodischen Bereich (etwa der α_2-Globuline) bis in die Zone der β_2-Globuline erstreckte. Schließlich eine verhältnismäßig kurzbogige Komponente im äußersten Drittel der γ-Globuline, die mit vorgenannter Fraktion ein typisches Kreuzungsphänomen aufwies. Außerdem zeigte sich regelmäßig eine verschieden langgestreckte doppelbogige Fraktion, die mit einem Kreuzungsphänomen in der Mitte der weitest anodisch gewanderten Fraktion beginnt und in Höhe der Auftragestelle endet.

Gegen Anti-tumorserum zeigte derselbe Extrakt ein ähnliches Präzipitationsmuster jedoch mit dem Unterschied, daß sich eine zusätzliche Fraktion im γ-Bereich abgrenzen läßt, die in etwa dem Serum-γ-Globulin gleichkommt, und daß außerdem die im α_1-bis α_2-Bereich beschriebene Linie weniger deutlich zutage trat. Außerdem fehlten einige Unterfraktionen in praktisch allen Abschnitten. (Abb.9)

Gegen Anti-humanserum bildete der Leberextrakt etwa 12 Präzipitationslinien aus. Diese unterschieden sich deutlich in Anordnung und Intensität von den Linien, die sich aus dem Leberextrakt gegen sein spezifisches Anti-serum ergaben. In den meisten Analysen war hier vor der Albuminfraktion eine feine Präzipitationslinie nachweisbar. Die weitbogige Komponente im α_2-β_2-Bereich wurde vermißt und auch die beschriebene extrem kathodisch gelegene Präzipitationslinie war mit Anti-humanserum nicht aufzuzeigen.

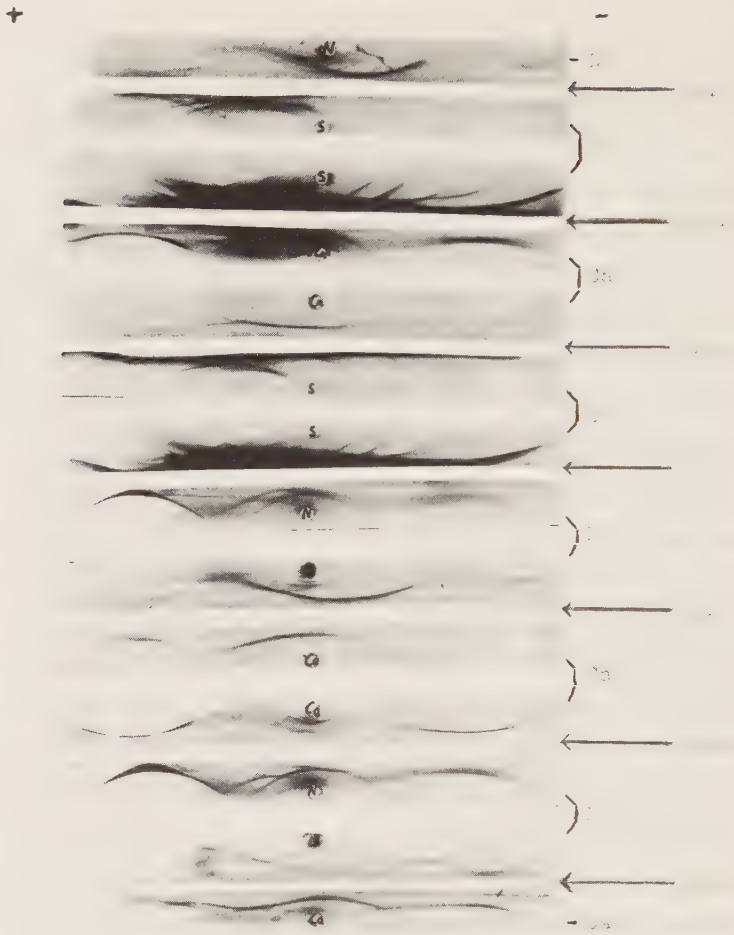


Abb. 9: zeigt die Immunoelektrophorese und Versuchsanordnung der verschiedenen Analysensätze in einer Übersicht.

Zeichenerklärung

N	= Leberextrakt	AL	= Antileberserum
Ca	= Lebertumorextrakt	ACa	= Antitumorserum
s	= Serum	AHS	= Antihumanserum

Der Tumorextrakt entwickelte gegen sein spezifisches Anti-serum bis zu 10 Präzipitationssysteme. Die Verteilung der Linien entsprach weitgehend dem Muster des normalen Leberextraktes, mit dem Unterschied, daß die weitgespannte α_2-β_2-Fraktion nicht so deutlich in Erscheinung trat als im Leberextrakt, und daß außerdem die beschriebene extrem kathodisch gewanderte Fraktion nicht abgrenzbar wurde. Dagegen zeigte sich ein Präzipitat, das dem γ-Globulin entspricht. Insgesamt war die Zahl der dargestellten Linien geringer als beim Normalleberextrakt.

Mit dem Serum gegen Normalleber wurden nur 5 Fraktionen auspräzipitiert, wobei vor allem die γ-Globulin-Linie (selbst bei mehreren Ansätzen)vermißt wurde. Außerdem war wiederum die α_2-β_2-Fraktion wesentlich kürzer und weniger intensiv dargestellt. Gegen Anti-Human-Serum waren bis zu 10, teilweise allerdings nur sehr zarte, Präzipitationslinien sichtbar. Unter ihnen imponierte vor allem die von dem Albuminbereich bis an die Auftragestelle reichende doppelbogige Fraktion, die in ihrem anodischen Abschnitt ein deutliches Antigenüberschußphänomen aufwies. Die α_2-β_2-Fraktion wurde vermißt, während das γ-Globulin wieder nachweisbar war. Außerdem stellte sich in einigen Analysen eine zarte Albuminvorfraktion dar.

Das Serum eines gesunden Menschen zeigte gegen sein spezifisches Antiserum die bekannten Präzipitationsphänomene.

Gegen Anti(normal)leberserum kamen vorwiegend Fraktionen im α_2-Bereich zur Darstellung, aber auch an der Stelle des Albumins und an der Stelle der β_1-Globuline. Fraktionen im Bereich der γ-Globuline wurden vermißt.

Gegen Anti-tumorserum waren ähnliche Phänomene sichtbar, wobei allerdings die γ-Globulinfraktion als schwaches Präzipitat in Erscheinung trat. γ-Subfraktionen, etwa das γ_M- oder das γ_A-Globulin waren in keinem der angesetzten Analysen faßbar.

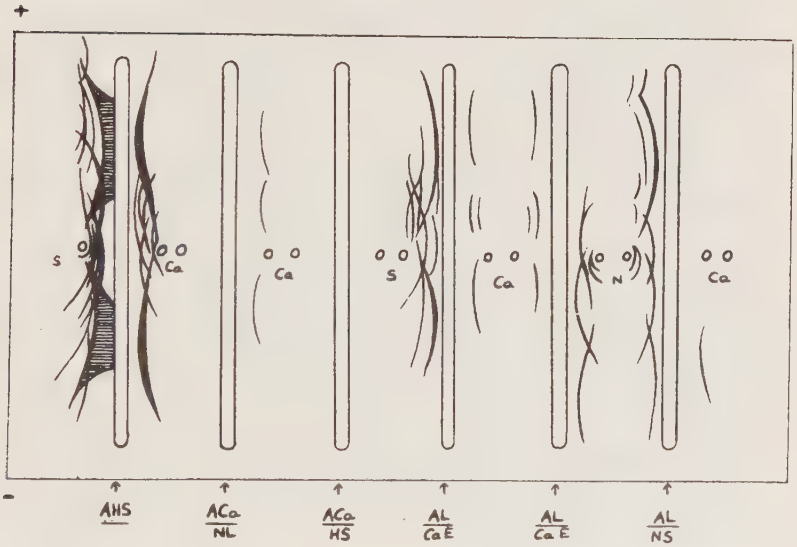
Die kreuzweisen Absorptionsversuche haben gezeigt, daß das spezifische Anti-(normal)-leberserum, (welches vorher mit Tumorextrakt versetzt wurde), gegen seinen spezifischen Normalextrakt eine Reihe von Fraktionen auspräzipitierte, unter welchen vor allem die weit kathodisch gewanderte Fraktion sowie Komponenten im β_1-β_2- und auch im α-Globulinbereich in Erscheinung traten. (Abb.10)

Dasselbe Serum bildete gegen den Tumorextrakt in einem Analysensatz 4 äußerst schwache Präzipitate vorwiegend im anodischen Bereich und auch an der Stelle der

Abb. 10. Halbschematische Darstellung der Ergebnisse der Absorptionsversuche

Absorptionen:

1. Anti-(normal)-Leber-serum + Humanserum = AL + NS
2. Anti-tumor-serum + Leber-(normal)- Extr. = ACa +NL
3. Anti-tumor-serum + Humanserum = ACa +HS
4. Anti-(normal)-Leber-serum + Tumorextrakt = AL + CaE



β_1-Globuline aus.

Gegen menschliches Serum kamen eine Vielzahl (bis zu 7) von Fraktionen zur Darstellung; auch hier vorwiegend im anodischen Bereich und an der Stelle der β_1-Globuline. Unter ihnen fiel eine Fraktion besonders auf, die von der Auftragestelle im doppelt geschwungenen Bogen bis über den Albuminbereich hinausragte.

Das mit Serum versetzte Anti-leberserum ergab gegen Normalleberextrakt ein verhältnismäßig reiches Prä - zipitationsmuster (Abb.10), gegen Tumorextrakt etwa zwei äußerst schwache Komponenten, hier vorwiegend im kathodischen Bereich.

Anti-tumorserum mit Normalhomogenat versetzt, ergab gegen Tumorextrakt nur in einem Analysensatz eine Präzi- pitatbildung mit 3 äußerst schwachen Linien im β_1-Bereich und anodisch. Gegen Normalleberhomogenat kam keine Reaktion zustande und gegen Humanserum allenfalls zwei schwache Präzipitationssysteme um die Auftragestelle und wiederum im α_2-Globulinbereich.

Anti-tumorextrakt mit Humanserum versetzt ergab weder gegen Tumorextrakt, noch gegen normale Leber, noch gegen Humanserum eine Reaktion.

III. DISKUSSION

Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse haben gezeigt, daß die agarelektrophoretisch differenzierbaren Proteine eines normalen Leberextraktes und die eines primär in der Leber entstandenen malignen Tumors in ihren biochemischen und in ihren immunologischen Eigenschaften Unterschiede aufweisen. Diese bestehen bereits in einer quantitativen Abweichung der mit Amidoschwarz 10 B darstellbaren Eiweißfraktionen, wobei der Tumorextrakt insgesamt bei gleicher Aufbereitungstechnik weniger eiweißreich ist als der Leberextrakt. Es zeigen sich aber auch qualitative Abweichungen insofern, als der Tumorextrakt einen kürzeren Trennbereich aufweist, in welchem lediglich die α-Fraktionen deutlich und gut differenzierbar sind, während die Proteine des ß-γ-Bereiches im Vergleich zum normalen Leberextrakt weit in den Hintergrund treten. Die Befunde des normalen Leberextraktes entsprechen früheren eigenen Analysen (8,13,34) sowie den agarelektrophoretischen Ergebnissen anderer Autoren (23). Sie entsprechen in ihren Grundzügen den Trennergebnissen auf Papier, wie sie bereits früher in der Literatur mit-geteilt wurden (5,6,20).

Auf Grund der Kohlenhydratfärbung handelt es sich bei den im Tumorextrakt stark vertretenen anodisch gewanderten Proteinen (α-Globuline) sicher um Glykoproteide, eine Feststellung, die möglicherweise für die Genese der α-Konstellationstypen mit Glykoproteidanreicherung in tumortragenden Individuen Bedeutung erlangt (21, 29). Diese Proteine erweisen sich auf Grund ihrer Anfärbbarkeit mit Sudanschwarz B als Lipide. Die Ergebnisse nach Protein- und Glykoproteidfärbung weisen darauf hin, daß eine weitere Differenzierung des Tumorextraktes gegenüber normalem Lebergewebe weniger möglich ist. Möglicherweise erklärt sich dies dadurch, daß Tumorgewebe weniger gut aufgeschlossen werden kann.

Entsprechend dem histologischen Befund handelte es sich bei dem Tumor um ein dem Mesenchym entstammendes Grundgewebe während das Leberhomogenat vorwiegend einem drüsig formierten Gewebe epithelialer Herkunft entspricht. Insofern ist es allerdings fraglich, ob ein Vergleich dieser verschiedenen Substrate zulässig ist. Diese Bedenken können jedoch weitgehend vernachlässigt werden, wenn man bedenkt, daß es gelungen ist, den Nachweis der genetischen Verwandtschaft von Hämangioendotheliomen und primären Carcinomen der Leber tierexperimentell zu erbringen (38, 42).

Kupfer-bindende Fraktionen finden sich, unter Verwendung von Alizarin-S-Blau und der Oxydasereaktion, in der Leber im Bereich des Albumin und der α_2-Globuline (hier vorwiegend als Coeruloplasmin). Im Tumorextrakt liegt lediglich eine geringe Konzentration an oxydaseaktivem Coeruloplasmin vor. Die Diskrepanz dieser Befunde ist schwer zu erklären, zumal nach allgemeiner Ansicht (49) im Tumorgewebe der Gehalt an proteingebundenem Kupfer und Eisen verhältnismäßig hoch ist. Möglicherweise handelt es sich um nichtdepotfähiges Kupfer, das in Abhängigkeit vom Zellstoffwechsel rasch umgesetzt wird und infolgedessen der Analyse eines Gewebshomogenates entgeht.

Bei der Untersuchung der Aktivität verschiedener Fermente konnte gezeigt werden, daß vor allem esteraseaktive Komponenten im Tumorextrakt in wesentlich geringerer Konzentration als im Normalextrakt auftreten. Dies ist nicht allein mit geringerer Proteinkonzentration des Tumorextraktes zu erklären. Vielmehr dürfte es sich um einen Fermentschwund im Tumorgewebe handeln. Dies erhellt auch daraus, daß im Normalextrakt an Stellen selbst geringster Proteinkonzentration stets hohe Esteraseaktivitäten zu demonstrieren sind. Damit ist bewiesen, daß die Fermentaktivität der Esterasen nicht von der Eiweißkonzentration abhängt. Außerdem ist mehrfach beobachtet worden, daß

Fermentaktivitäten nicht nur an eine mit Proteinfärbung darstellbare Fraktion gebunden sind (50).
Auf diese Verminderung an Esterasen in malignen Geweben wurde bereits von anderer Seite hingewiesen (7, 19). Geht man davon aus, daß in praktisch allen Geweben Esterasen ebenso rasch gebildet wie inaktiviert oder an ihre Umgebung abgegeben werden, so ist anzunehmen, daß dies insbesondere für die Esterasen des hochaktiven Tumorgewebes zutrifft.

Gleiche Diskrepanz hat sich für die Aktivität der LDH bei vergleichenden Untersuchungen des Tumorextraktes und des normalen Lebergewebes ergeben. Die hochgradige Verminderung der LDH-aktiven Fraktionen im Tumorextrakt bei annähernder Gleichförmigkeit des Verteilungsmusters überraschte insofern, als auf Grund klinischer und experimenteller Ergebnisse (1, 26, 27) häufig bei gewissen Malignomen insbesondere bei generalisiert wachsenden oder zerfallenden Tumoren eine deutliche Anreicherung der LDH-Aktivität im Serum nachgewiesen wird. Man schließt -- in Analogie zu den akuten Permeabilitätsstörungen der Leber und des Myokards -- daraus, daß diese LDH den Tumorzellen entstammt. Studien an der elektrophoretisch differenzierten Serum-LDH bei Kranken mit Malignomen haben ergeben, daß es im LDH-Muster keinen sicheren Tumortyp gibt.

Im hier vorliegenden Falle waren die LDH-Aktivitäten fortlaufend untersucht worden. Sie beliefen sich auf Werte von 1200 - 3000 E ansteigend, wobei bei elektrophoretischer Differenzierung des Serums die Fraktion 4 und 5 die relativ höchste Aktivität aufwiesen, so daß es sich um einen sog. "Lebertyp" handelte. Die Serumlabilitätsproben waren dagegen während des gesamten Krankheitsablaufes unauffällig (Takata 90 mg%, Thymol 6,5 TE); das Gesamteiweiß zeigte deutlich erniedrigte Werte (5,6 g% und 4,7 g%), was ebenfalls gegen eine Leberparenchymerkrankung sprach.

Somit wäre aus der hochgradigen Verminderung der LDH - Aktivität im Tumorgewebe, ähnlich wie dies bei den Esterasen oben zu diskutieren war, der Schluß zu ziehen, daß die Fermente im Tumorgewebe praktisch nicht depotfähig sind, sondern rasch eliminiert werden. Es besteht aber gerade im Hinblick auf die vorliegenden serologischen Befunde die Möglichkeit, daß die im Serum eines Tumorträgers auftretenden LDH-Erhöhungen nicht dem malignen Gewebe selbst entstammen, sondern dem -- vom Tumor infiltrierten und damit akut geschädigten -- Grundgewebe. Das würde dann allerdings die Bedeutung der Serum-LDH bei Verdacht auf die Existenz eines malignen Prozeßes grundlegend dahingehend ändern, daß ihre Anreicherung und deren elektrophoretisch faßbares Verteilungsmuster lediglich als Indikator einer Tumorlokalisation und Prozeßaktivität, aber nicht der Tumorqualität zu werten wäre.

Schließlich ist zu den Ergebnissen der alkalischen Phosphatase, der Amylase, und auch der Peroxydase zu bemerken, daß zwar in all diesen Fällen im Normalgewebe die Fermente an typischer Stelle -- wie dies in früheren Untersuchungen bereits festgelegt werden konnte (13, 14, 36) -- nachweisbar wurden, daß sie im verglichenen Tumorextrakt dagegen mehr oder weniger stark vermindert auftraten. Diese Beobachtungstatsache steht im Widerspruch zu Einzelmitteilungen der einschlägigen Literatur (18, 22); es ist allerdings zu bedenken, daß die Versuchsanordnung und insbesondere auch die Methoden zum Nachweis der Fermente mit den hier vorliegenden Versuchsbedingungen nicht absolut vergleichbar sind.

Aus den Ergebnissen nach zweidimensionaler Immunodiffusion läßt sich grundsätzlich ableiten, daß der Tumorextrakt Antigene besitzt, die einerseits mit Leberproteinen identisch sind -- im allgemeinen handelt es sich um zwei, allenfalls drei solcher proteiner Faktoren --. Andrerseits besteht nur Teilidentität mit Normal-leber-Proteinen. Schließlich ergeben sich aber auch für mindestens zwei Systeme Kreuzreaktionen als Ausdruck völliger Antigenfremdheit. Dagegen fehlen Proteinsysteme im Tumorextrakt, welche in der normalen Leber nachweisbar werden.

Zur Identifizierung bzw. Charakterisierung dieser Komponenten kann auf Grund der immunoelektrophoretischen Ergebnisse nach Absorption der Antiseren mit dem konträren Antigen ausgesagt werden, daß es sich hierbei im wesentlichen um ein Protein mit der Wanderungsgeschwindigkeit von α_2-Globulinen handelt +, bei Normal-leber-extrakt außerdem um ein kathodisch gewandertes Protein, das seiner Lage nach mit einem γ-Globulin verglichen werden kann, nach seiner Präzipitationsform jedoch, ein Charakteristikum des Leberextraktes darstellt.

Die immunoelektrophoretischen Befunde haben im einzelnen gezeigt, daß die untersuchten Extrakte im Vergleich zu einem Serum gegen ihre spezifischen Anti-seren vielfach eine Reihe von Präzipitationslinien entwickelten, welche sich bei Vergleich der Antigengemische deutlich voneinander unterschieden (siehe Ergebnisse und Abb. 9). Vergleicht man die Präzipitationsmuster der verschiedenen Extrakte einschließlich Serum, unter Verwendung von spezifischem Anti-(normal)leber-Serum, so fällt auf, daß im Tumor ebenso wie im Serum wenigstens eine Fraktion, nämlich die am weitesten kathodisch gewanderte Komponente, fehlt. Daraus ist abzuleiten, daß diese Komponente für den Leberextrakt

---

+ Fußnote: mit der Bezeichnung von Globulintypen aus der Reihe der Serumeiweißkörper soll lediglich eine Definierung auf Grund elektrophoretischer und Diffusionseigenschaften der untersuchten Organproteine ermöglicht werden, jedoch keine Identität mit Serumeiweißkörpern unterstellt werden.

immunologisch spezifisch ist.

Weiterhin zeigt das Präzipitationsmuster der verschiedenen Extrakte gegen spezifisches Anti-tumor-Serum ebenfalls Abweichungen, die jedoch vielerlei uncharakteristische Varianten aufweisen, sodaß ein streng spezifischer Malignitätsfaktor nicht sicher herauskristallisiert werden kann, auch wenn unterschiedliche determinante Antigen-Gruppen anzunehmen sind.

Mit einem Anti-Human-Serum ließen sich relativ deutliche Abweichungen im Präzipitationsmuster gegen die beiden Extrakte im Vergleich zu einem Serum feststellen. Daraus ist zwar grundsätzlich der Schluß zu ziehen, daß immunologische Antigenverwandtschaft unter den Proteinen der verschiedenen Extrakte und der Serum-Proteine besteht, daß aber, wie bereits erwähnt, unterschiedliche determinante Antigengruppen existieren. Dies deckt sich im übrigen mit früheren Untersuchungsergebnissen.

Die Tatsache allerdings, daß im gegenseitigen Absorptionsversuch, bis auf 1 - 2 Systeme, praktisch alle Proteine gebunden wurden, spricht für immunologisch gleichartige Grundstruktur der verschiedenen (hier verglichenen) Proteine.

Diese immunologischen Studien weisen darauf hin, daß Proteine von Tumorgewebe gegenüber den Proteinen normaler Gewebe unterschiedliche Antigen-Eigenschaften bzw. Antigen-Determinanten besitzen. Dies steht in Übereinstimmung mit prinzipiell gleichartigen Untersuchungsergebnissen der einschlägigen Literatur (4, 24, 51). Für die Klinik bedeuten diese Erkenntnisse, daß es möglich sein muß, Tumor-Antikörper serologisch nachzuweisen und unter Umständen diagnostisch zu verwerten.

IV. ZUSAMMENFASSUNG

Mit Hilfe von biochemischen und immunologischen Methoden in Kombination mit agarelektrophoretischer Trennung wurden die Extrakte einer normalen Leber und eines Hämangioendothelioms des gleichen Organes verglichen.
Das normale Lebergewebe zeigte eine relativ große Anzahl agarelektrophoretisch differenzierbarer Proteine, die sowohl weit anodisch als auch extrem kathodisch gewandert bzw. endosmotisch verzogen waren. Dem gegenüber war der Trennbereich der Tumorproteine wesentlich verkürzt, hier wurden vorwiegend im anodischen Bereich Eiweißkomponenten nachgewiesen. Es fanden sich vorwiegend Glykoproteide. Unter den faßbaren Fermenten waren im Tumor sämtliche vermindert nachweisbar, insbesondere gilt dies für die Carbonsäureesterasen und die LDH.

Die immunologischen Studien weisen darauf hin, daß der Tumorextrakt gegenüber dem normalen Leberhomogenat einen Antigenverlust erkennen ließ. Unter den Eiweißsystemen, die größtenteils mit den Proteinen des Leberextraktes wie auch des Serums Identitätsreaktionen ergaben, erwies sich mindestens eines aber als fremd.
Es wird diskutiert, ob ein derartiges immunologisches Phänomen als Malignitätskriterium und außerdem als sensibilisierungsfähiges Protein Bedeutung erlangt.

Literatur

1. BÄR, U., E.SCHMIDT und F.W.SCHMIDT:

Enzym-Muster und Isoenzyme menschlicher Tumoren.

Klin. Wschr. 41 977 (1963)

2. BERG, G., E.ROLLER und H.LEISLE :

Experimentelle und klinische Untersuchungen zur Frage der Dysproteinämie-Entstehung bei Lebererkrankungen.

Gastroenterologia 95 88-99 (1961)

3. BOYDEN, S.V.,

Absorption of proteins on erythrozytes treated with tannic acid and subsequent haemagglutination by antiprotein sera.

J. Exper. Med. 93 107-120 Feb. (1951)

4. DECKERS, B.C. and J.MAISIN :

Nichtspezifische Präzipitationsmuster beobachtet in doppelter Diffusion zwischen Serum und Extrakten normaler Organe und Tumoren.

Kongr. Zbl. 259. Band, Heft 3 Juni 1964

5. DEMLING, L.:

a) Elektrophoretische Aufspaltung von Organeiweiß.

Klin. Wschr. 30 , 74 (1952)

b) Neoplasmen im Elektrophoresebild.

Ärztl. Forschung, Jhg.8, I/154 (1954)

6. DEMLING, L., H.KINZLMEIER und N.HENNING :

Über die quantitative Zusammensetzung der Organproteine (elektrophoretische Untersuchungen).

Z. exper. Med. 122 , 416 (1954)

7. EDLBACHER, S. und M. NEBER :

Herabsetzung der Lipaseaktivität bei Tumoren gegenüber Normalgewebe.

Zschr. Physiol. Chemie 233 265 (1935)

8. GÖTZ, H.:

Fermentnachweis in Leberhomogenaten

Z. Med. Ernähr. (im Druck)

9. GÖTZ, H., und F. SCHEIFFARTH :

Immunoelektrophoretische Untersuchungen an Organextrakten.

Klin. Wschr. 41 587 (1963)

10. GÖTZ, H., G.BERG und F. SCHEIFFARTH :

Methodische Grundlagen der Immunoelektrophorese.

Z. Immunforsch. 114 72 (1957)

11. GÖTZ, H., F. SCHEIFFARTH und N. AL-SAFAR

Weitere agarelektrophoretische Studien an menschlichen Organextrakten.

Med. exp. 10 27-33 (1964)

12. GÖTZ, H., F. SCHEIFFARTH und I. DÜBELER :

Vergleichende elektrophoretische und immuno-elektrophoretische Studien an Organextrakten des menschlichen Magens.

Gastroenterologia 98 30 - 47 (1962)

13. GÖTZ, H., F.SCHEIFFARTH und G. GAST :

Agarelektrophoretische Studien an Leberextrakten.

Z. Gastroenterologie 2 148-156 (1964)

14. GÖTZ, H., F. SCHEIFFARTH und D. HOFFMANN :

Diastasenachweis in einigen menschlichen Organextrakten mit Hilfe der Elektrophorese im Agargel.

Z. Gastroenterologie 2 76-78 (1964)

15. GRABAR, P.:

a) Etudes sur les protéines à l'aide de méthodes immunochimiques.

Bull. Soc. Chim. Biol. 36 65 (1954)

b) Die Anwendung immunchemischer Methoden bei der Untersuchung der Proteine, insbesondere der Serumproteine.

Dtsch. med. Wschr. 79 1916 (1954)

c) Untersuchung von Serumeiweißstoffen mit Hilfe immunchemischer Methoden.

Zbl. Bakter. 164 15 (1955)

16. GRABAR,P. et P. BURTIN :

a) Analyse immuno-électrophorétique. Application avec liquides biologiques humaines.

Masson et Cie., Paris 1960

b) Immunoelektrophoretische Analyse

Elsevier Publ. Comp. Amsterdam 1964

17. GRABAR, p. et C.A. WILLIAMS :

a) Méthode immunoélektrophorétique d'analyse de melange de substances antigéniques.

Biochem. biophys. Acta 17,67 (1955)

b) Méthode permettant l'étude conjugée des propiétés électrophorétiques dún mélange des protéines; application an sérum sanquin.

Biochem. biophys. Acta 10 193 (1953)

18. GRASSER, P.:

Über erhöhte Serumamylase bei bösartigen Tumoren.

Helv. med. Acta 26 687-690 (1959)

19. GREENSTEIN, P.:

Esterases activity of normal and neoplastic tissues of mouse.

J. nat. Cancer Inst. 5 31 (1944)

20. HENNING, N., L. DEMLING und R. KINZLMEIER :

Weitere Untersuchungen über die elektrophoretische Aufspaltung von Organproteinen.

Klin. Wschr. 435 (1953)

21. KUZMENKO, L.N., M.D. PODILTSCHAK und D.A. MAKAR :

Elektrophoretische Untersuchung der Plasmaeiweiße beim experimentellen Krebs.

Acta biol. med. German 5 , 398-408 (1960)

22. LASNITZKI, A.:

Neuere Untersuchungen über den Stoffwechsel der Carcinomzelle.

Z. Krebsforsch. 22 531 (1925)

23. LICHT, W.:

Die Eiweißzusammensetzung der gesunden und cirrhotischen menschlichen Leber. Elektrophoretische und immunoelektrophoretische Untersuchungen.

(1963)

Hoppe Seyler's Zschr. Physiol.Chem. 334, 275

24. NAIM,R.C., H.G.RICHMOND, M.G. ENTEGART and J.E.FOTHERGILL :

Immunological differences between normal and malignent cells.

Brit. Med. J. 1960, II 1335 -1340

25. OUCHTERLONY, Ö.:

Diffusion-in-gel methods for immunological analyses.

Basel/ Progr. Allergy 5 1-78 (1958) I Karger, New York

26. PFLEIDERER, G. und E.D. WACHSMUTH :

Alters- und funktionsabhängige Differenzierung der Lactat-dehydrogenase menschlicher Organe.

Biochem. Z. 334 185 (1961)

27. RICHTERICH, R.:

LDH - Isoenzyme.

Ciba Symposium 12 114 (1964)

28. SCHEIFFARTH, F. und H. GÖTZ :

a) Die Bedeutung der Immunoelektrophorese bei der Differenzierung pathologischer Seren.

Int. Arch. Allergy, 16 61 (1959)

b) Eine Methode zum Diastase-nachweis agarelektrophoretisch getrennter Proteingemische.

Klin. Wschr. 42 130/131 (1964)

29. SCHEIFFARTH,F., G.BERG und H.GÖTZ :

Papierelektrophorese in Klinik und Praxis.

Verlag Urban Schwarzenberg (1962)

30. SCHEIFFARTH,F., H.GÖTZ und F.CZAGANY :

Zur quantitativen Bestimmung der Coeruloplasmin-konzentration im Serum. Unter besonderer Berücksichtigung von Leberparenchymschäden und malignen Prozessen.

Med. Welt 1961 1449 - 1453

31. SCHEIFFARTH, F., H.GÖTZ und S.EBERT :

Esterasenachweis in einigen menschlichen Organen.

Klin. Wschr. (im Druck)

32. SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und D.HOFFMANN :

Agarelektrophoretische Studien zur Charakterisierung von menschlichem Milzextrakt.

Zschr. Klin. Chem. 2 142 (1964)

33. SCHEIFFARTH,F., H. GÖTZ und H. KNOPFF :

Die Bedeutung kombinierter Färbeverfahren nach immunoelektrophoretischer Analyse pathologischer Seren.

Acta haematolog. 26 169 - 181 (1961)

34. SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und G.SCHERNTHANER :

Immunoelektrophoretische Studien zur Frage der Identität menschlicher Organ- und Serum-proteine.

Clin. chim. Acta 6 481 -492 (1961)

35. SCHEIFFARTH,F., H. GÖTZ und G.THUMA :

Weiterer Beitrag zur Frage der Identität von artspezifischen Organ und Serumproteinen.

Clin. Chim.Acta 7 355 - 365 (1961)

36. SCHEIFFARTH, F., H.WARNATZ und H. GÖTZ :

Nachweis der alkalischen Phosphatase im agarelektrophoretisch getrennten Serum.

Med. Welt 1961 2216 - 2220

37. SCHEIFFARTH, F., H.GÖTZ, H.WARNATZ und H.AUTENRIETH :

Agarelektrophoretische Studien an der normalen Colonschleimhaut.

(im Druck)

38. SCHMÄHL, D. und C. THOMAS :

Dosis-Wirkungs-Beziehungen bei der Erzeugung von Hämangioendotheliomen der Leber bei Mäusen durch Diäthylnitrosamin.

Zschr. f. Krebsf. 66 533-535 (1965)

39. SCHWICK, G.:

Die Technik der Immunoelektrophorese.

Laborat. Bl. Behringwerke p. 11 (1958)

40. TEE,D.E., J.WATKINS, M.WANG and D. B. GAMMACK :

The type of antibody response in mice immunised with transplantable tumours.

Nature (Lond.) 204 391 (1964)

41. TEE,D.E., J.WATKINS and Mildred WANG and D.B GAMMACK and J.H. RAPER :

Changes in Mouse 7 S γ-Globulin Resulting from Immunization with Transplantable Tumours.

Immunology 9 85 (1965)

42. THOMAS,C. und D. SCHMÄHL :

Zur Morphologie der durch Diäthylnitrosamin erzeugten Lebertumoren bei Maus und Meerschweinchen.

Zschr. Krebsforsch. 65 531 (1963)

43. URIEL,J.:

Étude de l'activité enzymatique de la céruloplasmine du sérum humain après électrophorèse en gélose.

Bull. Soc. Chim. Biol. 39 Suppl. I, 105-118 (1957)

44. URIEL,J. et P. GRABAR :

Emploi de colorants dans l'analyse électrophorétique et immuno-électrophorétique en milieu gélifie.

Ann. Inst. Pasteur 90 429 (1956)

45. URIEL, J., P. GRABAR et Ch. WUNDERLY :

Étude d'un sérum de macroglobulinémie par l'électrophorèse en gélose et sur papier et par ultracentrifugation.

Clin. chim. Acta 2 35 - 42 (1957)

46. VAN DER HELM, H.J.:

A simplified method of demonstrating lactic dehydrogenase isoenzymes in serum.

Clin. chim. Acta 7 124 (1962)

47. WIEME, R.J.:

Applications diagnostiques de l'enzymo électrophorese. Proteides biol. Fluids.

(Proc. VI.th Coll. Prot. Brugge, Mai 1958) p. 236. Elsevier Publ. Co. Amsterdam(1959)

48. WILLIAMS, C.A., et P. GRABAR :

Immunoelectrophoretic studies on serum proteins. I. The Antigens of human serum.

J. Immunol. 74 158 (1955)

49. WÖHLER, F., und S. ARDEN :

Über den Kupfergehalt menschlicher Organe bei verschiedenen Krankheitszuständen.

Klin. Wschr. 41 509 (1963)

50. WÜST, H., G. BERG und H. SCHÖN :

Untersuchungen über die differentialdiagnostische Bedeutung von Fermentbestimmungen in präparativ getrennten Serumeiweißfraktionen.

Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. 66 216 (1960)

51. ZILBER, L.A.:

Study of the tumor specifity of gastric cancer tissue.

Ann. N.Y. Acad. Sc. 101 264-270 (1962)

An dieser Stelle möchte ich
Herrn Prof. Dr. S c h e i f f a r t h
für die freundliche Überlassung
des Themas und

Herrn Prof. Dr. S c h e i f f a r t h
für die Übernahme des Referates
herzlich danken.

Ganz besonders gilt Fräulein Dr. G ö t z
mein Dank für die bereitwillige
Anleitung und Unterstützung bei
der Anfertigung dieser Arbeit!

L e b e n s l a u f

Am 10.10.1939 wurde ich als zweiter Sohn des Missionars Konrad M u n s e l und seiner Ehefrau Ruth, geb. Schnabel, zu Finschhafen in Neu Guinea geboren.

Bei Ausbruch des Krieges wurde die gesamte Familie nach Australien evakuiert, wo wir dann 1941 in Tatura / Victoria interniert wurden. Nach Ende des Krieges entließ man uns im Oktober 1946 aus dem Lager und brachte uns in Süd - australien unter. Hier besuchte ich in Moculta bei Angaston zweieinhalb Jahre lang die australische Volksschule. 1949 folgte mein Vater einem Ruf als Pastor nach Chinchilla in Queensland und hier besuchte ich zwei weitere Jahre die Volksschule.

Als meine Eltern die Erlaubnis bekamen, wieder nach Neu Guinea auf das Missionsfeld zurückzukehren, trat ich im Januar des Jahres 1951 in das St. Peter's Lutheran College in Brisbane ein. Nach sechs Jahren legte ich 1955 dort meine mittlere staatliche Reifeprüfung ab.

1957 kamen meine Eltern mit mir auf ein Jahr Heimaturlaub nach Deutschland. Hier trat ich in die 7. Klasse des

Humanistischen Gymnasiums in Windsbach ein, und als meine Eltern 1958 wieder nach Neu Guinea zurückkehrten, wohnte ich in dem der Schule angeschlossenen Internat.

Im Juni 1960 unterzog ich mich der Reifeprüfung.

Mein medizinisches Studium begann ich im Wintersemester 1960 / 61 an der Universität Erlangen-Nürnberg und legte im Februar 1963 meine ärztliche Vorprüfung mit Erfolg ab. Im Sommersemester 1963 wechselte ich für den Beginn des klinischen Studiums nach Heidelberg über.

Ab dem dritten klinischen Semester setzte ich mein Studium in Erlangen fort und legte hier im Sommersemester 1966 mein Staatsexamen ab. (bestanden am 15. August)

Hermann M u n s e l

Offsetdruck - Fotodruck
Josef Hogl
8520 Erlangen, Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz,) Tel. 22990

Offsetdruck - Fotodruck
- J. Hogl, 8520 Erlangen, Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Telefon 22990 -